



## Avaliação do potencial algicida e algistático de extractos vegetais em *Chlorella vulgaris* e *Anabaena cylindrica*

No presente trabalho foi investigado o potencial algicida e algistático de óleos essenciais e de decocções extraídos das seguintes plantas: alfavaca (*Lavandula* sp.), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), loureiro (*Laurus nobilis*), mentrasto (*Mentha suaveolens*), freixo (*Fraxinus angustifolia*), choupo (*Populus* sp.) e sabugueiro (*Sambucus nigra*). Para tal, culturas de *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta) e *Anabaena cylindrica* (Cyanophyta) foram expostas a diferentes concentrações dos extractos mencionados. Os resultados obtidos indicam que os óleos essenciais testados possuem propriedades algicidas e que apenas as decocções de alecrim e loureiro na concentração máxima testada terão efeito algistático nas culturas de *C. vulgaris* e capacidade de diminuição da proliferação celular nas culturas de *A. cylindrica*. A decocção de freixo também parece ter efeito algistático mas apenas na cultura de *A. cylindrica*. No futuro, e num contexto de uma maior sustentabilidade ambiental, plantas ou extractos, com propriedades algicidas ou algistáticas poderão ser utilizados para controlar o excesso de algas em pequenas albufeiras, charcos e piscinas. Por outro lado, os conhecimentos adquiridos poderão também contribuir para uma melhor gestão da flora ribeirinha de forma a minimizar a ocorrência de crescimento excessivo de algas nos ecossistemas aquáticos.

### Palavras-chave

microalgas  
extractos vegetais  
actividade algicida e algistática

Sandra Barros

Ana M Gerales<sup>•</sup>

Conceição Fernandes<sup>••</sup>

CIMO, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança Campus de Santa Apolónia, Bragança Portugal.

<sup>•</sup> gerales@ipb.pt  
<sup>••</sup> conceicao.fernandes@ipb.pt

ISSN 1647-323X

## INTRODUÇÃO

Desde a década de 30 do século XX, que se tornou do conhecimento geral que plantas aquáticas e terrestres podem libertar para o meio envolvente compostos activos (alelopáticos) que condicionam o desenvolvimento de outros organismos (alelopatia). Estes compostos são geralmente fenóis, terpenóides, alcalóides, ácidos gordos e esteróides (Bourgau et al., 2001), podendo ser encontrados em diversas partes da planta, como, folhas, caules, frutos, sementes, não existindo no entanto um padrão para a quantidade exacta em cada parte da planta (Inderjit, 1996). Também foi observado, que muitos destes compostos inibiam o crescimento do fitoplâncton<sup>1</sup> e de outras espécies de algas filamentosas (Gross et al., 2007). São de salientar os estudos pioneiros nos quais se verificou que a palha de cevada apresentava um efeito de redução significativa na densidade de microalgas e um aumento acentuado na transparência da água em sistemas aquáticos com crescimento de algas excessivo (Newman e Barret, 1993; Caffrey e Monahan 1999; Geiger et al., 2005). São também de realçar os trabalhos desenvolvidos por vários autores (Gross 2000; Berger e Schagerl, 2004; Hilt 2006; Mulderij et al., 2006; Hilt e Gross 2008; Zhang et al., 2009) que mais uma vez evidenciaram o potencial algicida e algistático de plantas aquáticas. Outros trabalhos revelaram que óleos essenciais extraídos de várias plantas terrestres têm também efeitos inibidores do crescimento de várias microalgas (Cantrell et al., 2007; Yang et al., 2009). Extractos aquosos (infusões) provenientes de várias plantas também parecem ter efeitos negativos no crescimento do fitoplâncton (Jančula et al., 2007). Este tipo de investigação tem-se tornado relevante dado que é cada vez mais frequente em sistemas aquáticos, tanto naturais como artificiais, de pequena e grande dimensão, a ocorrência de um crescimento excessivo (blooms) do fitoplâncton e de algas filamentosas induzido pela crescente eutrofização<sup>2</sup> (Figura 1).



FIGURA 1: *Blooms* de algas filamentosas no Rio Fervença, Bragança, Trás-os-Montes, Portugal

A mitigação dos problemas ecológicos, estéticos e económicos causados pelos *blooms* de algas passa na maior parte dos casos pela simples aplicação de algicidas convencionais (e.g.  $\text{CuSO}_4$ ). No entanto, estes compostos têm vários inconvenientes, que incluem um grau de eficiência discutível, muitos são persistentes nos ecossistemas causando impactos ambientais muito negativos, e além disso podem ser tóxicos para outros organismos não-alvo. Outras alternativas aos processos químicos são os processos físicos, como por

<sup>1</sup> Chama-se plâncton (da palavra grega *planktos*, que significa errante) ao conjunto dos organismos que têm pouco poder de locomoção e vivem livremente na coluna de água. O fitoplâncton é composto seres fotossintéticos geralmente microscópicos (microalgas). São a base das teias alimentares aquáticas.

<sup>2</sup> É o aumento das concentrações de nutrientes, nomeadamente de fósforo e azoto, nos sistemas aquáticos. Este é acelerado pelas más práticas agrícolas e florestais e pela descarga de efluentes não tratados. Em consequência, ocorre um excessivo desenvolvimento de algas. As espécies de algas mais favorecidas pelo processo de eutrofização pertencem a dois grandes grupos: Chlorophyta (algas verdes) e Cyanophyta (cianobactérias). Muitas das cianobactérias favorecidas pela eutrofização são estirpes produtoras de toxinas, causando problemas de índole ambiental (mortandade de peixes e de outros organismos aquáticos), de saúde pública (água imprópria para consumo humano) e prejuízos económicos (turismo, actividades recreativas, mortandade de gado). Por outro lado, a intensa decomposição desta biomassa de algas leva à quase total depleção do oxigénio nos sistemas aquáticos afectados. Estes apresentam durante o dia pH muito elevado, durante a noite pH excessivamente baixo e oscilações bruscas das concentrações de oxigénio.

exemplo, a remoção mecânica e ultra-sons; no entanto, estes métodos são geralmente muito dispendiosos e apenas viáveis em áreas confinadas. Urge assim desenvolver novas tecnologias de controlo directo de populações de algas. Estas deverão ser eficientes, de baixo custo e ambientalmente sustentáveis. Em Portugal, apesar de existirem numerosos sistemas aquáticos (albufeiras, rios, lagos ornamentais e piscinas) com problemas devido ao desenvolvimento excessivo de algas, até ao momento não era conhecido nenhum tipo de investigação que visasse avaliar o potencial algicida<sup>3</sup> ou algistático<sup>3</sup> de plantas autóctones como possível ferramenta de controlo biológico (Barros, 2010; Barros, et al. 2010). Assim, o objectivo do presente estudo é avaliar o potencial algicida e algistático de extractos de várias plantas que ocorrem espontaneamente na região de Trás-os-Montes.



## MATERIAL E MÉTODOS

### Plantas

Para este estudo foram seleccionadas sete plantas: alfazema (*Lavandula* sp.), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), freixo (*Fraxinus angustifolia*), loureiro (*Laurus nobilis*), choupo (*Populus* sp.), sabugueiro (*Sambucus nigra*) e mendrasto (*Mentha suaveolens*), colhidas no Campus de Santa Apolónia, Instituto Politécnico de Bragança (41°47'45.01"N, 6°45'59.21"W), no mês de Setembro de 2009. Sempre que possível, foram consideradas três partes de cada planta: flores, folhas e caules para a extracção de óleos essenciais e para a obtenção das decocções<sup>4</sup>. O material vegetal colhido foi armazenado a -18 °C em envelopes de papel até ser processado.

### Obtenção de óleos essenciais e decocções

A extracção de óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação<sup>5</sup> durante 3 h a temperatura inferior a 100°C através do aparelho do tipo Clevenger. Cada amostra foi triturada e colocada num balão de 500 mL com água ultra-pura. Após o processo de destilação, a porção de óleo essencial obtido foi removida para um frasco de vidro. A decocção resultante deste processo foi filtrada e também recolhida. Ambos os tipos de extractos foram armazenados a -20°C.

### Culturas de microalgas e sua manutenção laboratorial

Para testar o efeito dos extractos das plantas foram utilizadas culturas monoalgais de *C. vulgaris* (CBS15-2075) e de *A. cylindrica* (UTAD\_A212). As culturas de *C. vulgaris* (Figura 2A) foram mantidas em meio de Walne modificado, a pH 6,0, agitadas continuamente por fluxo de ar, utilizando filtros autoclaváveis de 0.2

<sup>3</sup> Um algicida é uma substância ou composto que elimina (mata) as algas. Os algistáticos são compostos inibidores do crescimento das algas, impedindo apenas a sua proliferação sem as eliminarem totalmente dos sistemas aquáticos como acontece quando se aplica um algicida. Alguns algicidas, quando utilizados em baixas concentrações, podem comportar-se como algistáticos.

<sup>4</sup> Decocção: Extracto aquoso que neste caso em particular resulta da fervura de plantas. Estes extractos contêm compostos que se libertam durante o processo de fervura.

<sup>5</sup> A destilação é uma operação que se baseia na propriedade dos líquidos puros possuírem, a uma dada pressão, um ponto de ebulição bem determinado, permitindo designadamente separar um líquido volátil de substâncias não voláteis nele dissolvidas, ou separar líquidos voláteis com pontos de ebulição diferentes. A operação consiste na vaporização da fase líquida seguida da condensação da fase vapor. A hidrodestilação é uma técnica de destilação que consiste num sistema em que as plantas são colocadas num balão de vidro contendo água. Este é ligado a um condensador por onde há um fluxo de água para refrigeração. A mistura água e plantas é aquecida directamente mas a temperatura nunca ultrapassa os 100°C. O vapor produzido neste processo condensa-se no condensador e é recolhido. A separação de água e óleos faz-se facilmente porque óleos e água são imiscíveis.

µm e diâmetro de 50 mm (Millex™), a uma temperatura controlada de 25°C, com iluminação de 4500 lx proveniente de lâmpadas fluorescentes de 30W (Gro-Lux) e com fotoperíodo de 16h/8h luz/escuro. As culturas de *A. cylindrica* (Figura 2B) foram mantidas em meio BG11, a pH 7 em condições semelhantes, sendo agitadas manualmente uma vez por dia. Os meios de cultura e o material de vidro utilizado foram previamente esterilizados em autoclave durante 15 minutos a 121 °C.



FIGURA 2: Culturas das microalgas utilizadas no estudo: (A) *Anabaena cylindrica*; (B) *Chlorella vulgaris*.

### Ensaios Laboratoriais

#### Avaliação do potencial algistático e algicida das decocções

As culturas de *C. vulgaris* em fase exponencial foram expostas a diferentes concentrações das decocções: 1:4, 1:7 e 1:10 (25, 14 e 10 mL de extracto num total de 100 mL de cultura) conforme a Figura 3.

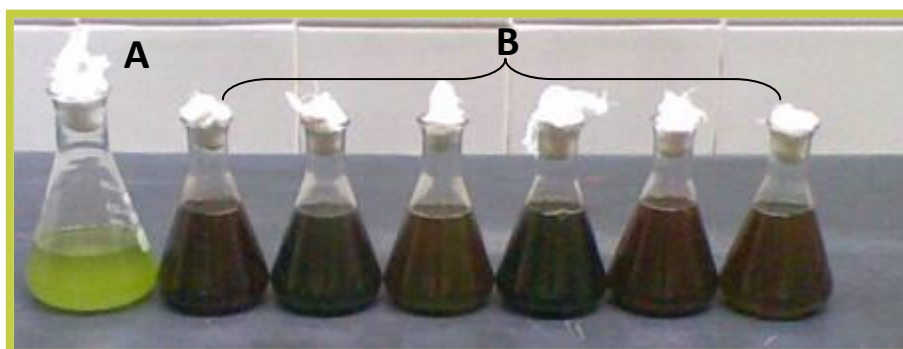


FIGURA 3: Aspecto dos ensaios em meio líquido. A: Controlo (cultura não exposta às decocções); B: Teste (culturas expostas a diferentes concentrações das decocções).

Os ensaios foram incubados durante 23 dias em câmara de cultura à temperatura de 22°C, intensidade luminosa de 2390 lx com fotoperíodo de 16 h/8 h luz/escuro, sendo agitados manualmente uma vez por dia. O crescimento das culturas foi avaliado por contagem diária do número de células em câmara de Neubauer<sup>6</sup>. O potencial algicida e algistático destes extractos foi avaliado pelos seguintes parâmetros: taxa específica de crescimento ( $\mu$ ) e tempo de duplicação ( $t_d$ ). Para cada cultura, os dados que relacionam o logaritmo do número de células por mL, em função do tempo de incubação, na fase exponencial do crescimento, foram ajustados por análise de regressão linear e usada a seguinte expressão:

$$\text{Taxa específica de crescimento } (\mu) = \frac{\text{Log}N - \text{Log}N_0}{t - t_0}, \text{ onde:}$$

$N$  = concentração de células no tempo  $t$  de incubação

$N_0$  = concentração de células no tempo  $t_0$

<sup>6</sup> A Câmara de Neubauer é utilizada para determinar ao microscópio o número de células presentes por unidade de volume numa suspensão. Foi desenvolvida inicialmente para contar células sanguíneas e por isso também é conhecida por hemocítmetro. Consiste numa lâmina reticulada de vidro com formato rectangular com uma depressão no centro onde é colocada amostra. Para mais informações consultar por exemplo o site: <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/cellcounting.html> (acedido em 10/5/11).

O tempo de duplicação foi calculado tendo em conta a seguinte expressão:

$$\text{Tempo de duplicação (td)} = \frac{\text{Ln}2}{\mu}$$

Os ensaios com *A. cylindrica* foram realizados nas mesmas condições, tendo sido testadas as seguintes concentrações de extractos: 1:4, 1:10 e 1:50 (25, 10 e 2 mL de extracto num total de 100 mL de cultura). Devido ao facto desta alga ser colonial, torna-se mais difícil fazer a avaliação do seu crescimento através da densidade celular. Assim, a avaliação do crescimento foi feita pela quantificação de pigmentos fotossintéticos de acordo com Lorenzen e Jeffrey (1980). O potencial algicida e algistático foi avaliado comparativamente ao controlo, pelo incremento em clorofila *a* e pelo seu valor máximo. Foram realizadas tomas para determinação das concentrações de clorofila *a* nos 1º, 5º, 15º, 19º e 23º dias.

#### *Avaliação do potencial algistático e algicida dos óleos essenciais*

Nesta primeira fase de investigação e com o objectivo de obter dados de forma mais expedita, os óleos essenciais foram apenas testados em meio sólido, utilizando-se o método de difusão em disco. As placas de Petri com meio sólido (1% agar) Walne modificado e BG11, foram inoculadas com *C. vulgaris* e *A. cylindrica* respectivamente. A inoculação foi feita com 150 µL de cultura na fase exponencial e semeada em forma de estrias na superfície do agar. Foram usados discos estéreis de 6 mm de diâmetro (Whatman No. 2017-006A A) que após colocação nas placas de Petri foram impregnados com 30 µL de mistura teste. Os óleos essenciais foram dissolvidos em solvente DMSO (Dimetilsulfóxido, Merck K40270552 936), constituindo a mistura teste mencionada e utilizada em diferentes concentrações: 1:1; 1:3; 1:4; 1:10; 1:50 num volume total de 30 µL. Os ensaios foram incubados em câmara de cultura durante 10 dias em condições idênticas aos ensaios com as decocções, após o que se procedeu à avaliação dos resultados. Os ensaios prolongaram-se por mais 7 dias com objectivo de verificar se os resultados anteriormente obtidos se mantinham. Juntamente com cada conjunto experimental foram incubados 4 controlos: Controlo de esterilização (avaliação da qualidade de esterilização do meio utilizado); Controlo de crescimento (para avaliar se o meio tinha todos os requisitos para a cultura algal crescer); controlo de disco e controlo de disco com DMSO (para avaliar se o disco utilizado e o DMSO interferiam com o crescimento da cultura). Os resultados foram avaliados em função dos halos de inibição de crescimento para ambas as microalgas.



## RESULTADOS

#### *Avaliação do potencial algistático e algicida das decocções*

As taxas específicas de crescimento ( $\mu$ ) e tempo de duplicação (td) determinados para a cultura de *C. vulgaris* incubada com 25 mL (1:4), 14 mL (1:7) e 10 mL (1:10) das diferentes decocções de plantas, comparativamente ao controlo, são apresentadas na Tabela I.

De um modo geral verificou-se um efeito algistático ou diminuição da taxa específica de crescimento apenas nas concentrações mais elevadas: os extractos de alecrim e de loureiro mostraram efeito algistático já que as densidades celulares se mantiveram constantes ao longo do tempo originando taxas específicas de crescimento nulas; por outro lado, a incubação na presença de mendrasto e, até certo ponto na presença de freixo, já que não ocorreu uma fase exponencial marcada, diminuiu a taxa específica de crescimento de *C. vulgaris*. Em nenhuma das concentrações testadas se verificou efeito algicida.

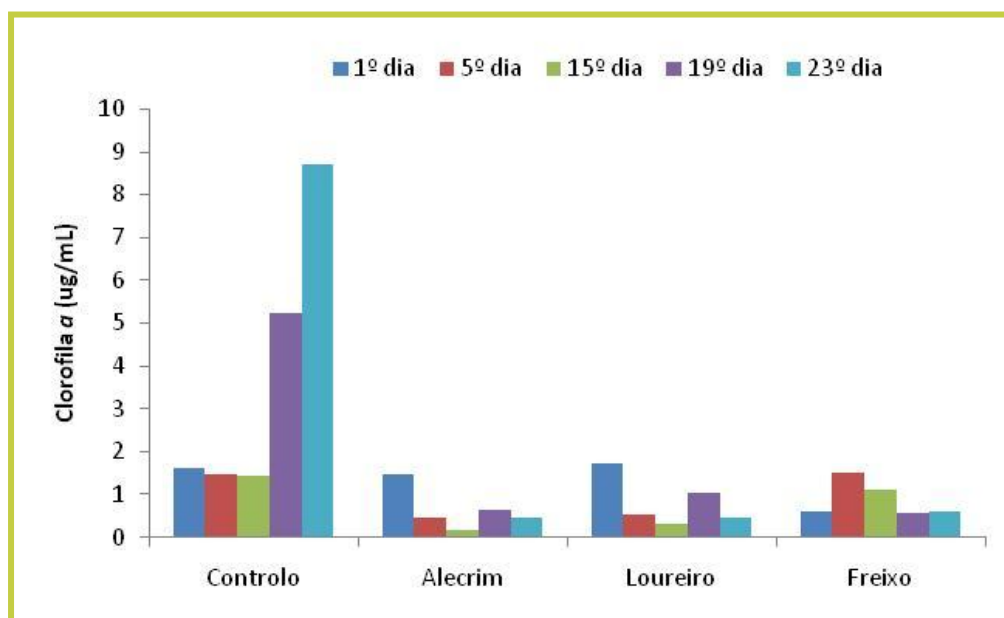


TABELA I: Taxa específica de crescimento ( $\mu$ ) e tempo de duplicação (td) em *C. vulgaris* exposta a diferentes concentrações de decocções das plantas avaliadas

	25 mL (1:4)		14 mL (1:7)		10 mL (1:10)	
	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	td (dias)	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	td (dias)	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	td (dias)
<b>Controlo</b>	<b>0.60</b>	<b>1.16</b>	<b>0.48</b>	<b>1.44</b>	<b>0.46</b>	<b>1.50</b>
<b>Choupo</b>	0.60	1.16	0.66	1.05	0.93	0.75
<b>Sabugueiro</b>	0.62	1.12	0.43	1.62	ND	ND
<b>Mendrasto</b>	0.47	1.47	0.77	0.90	0.54	1.28
<b>Alecrim</b>	0	0	0.48	1.44	0.54	1.28
<b>Loureiro</b>	0	0	0.75	0.92	0.55	1.26
<b>Freixo</b>	ND	ND	0.66	1.05	0.45	1.54

ND – não determinado

Na Figura 4 são apresentados os valores da clorofila *a* das culturas expostas às decocções na concentração de 1:4 em que os resultados parecem ser mais promissores. Assim, apenas as decocções de loureiro mostraram capacidade para diminuir a proliferação celular, ocorrendo uma diminuição dos valores de clorofila *a*. Por outro lado, o extracto de freixo mostrou potencial algistático já que o valor de clorofila *a*, não obstante a algumas oscilações, manteve-se próximo do inicial.

FIGURA 4: Variação da concentração de clorofila *a* em culturas de *A. cylindrica*, em meio BgG11 expostas a decocções na concentração de 1:4, durante 23 dias relativamente ao controlo.

Na Figura 5 são apresentados os efeitos das decocções de todas as plantas estudadas nas concentrações de 1:10 (10 mL num total de 100 mL de cultura) e 1:50 (2 mL num total de 100 mL de cultura). Os extractos de freixo e de alecrim na concentração de 1:10 parecem continuar a apresentar potencial algistático. Relativamente às culturas incubadas com o extracto de loureiro, continuou-se a observar a diminuição da proliferação celular. Na concentração de 1:50 verificou-se o estímulo do crescimento em todas as decocções.

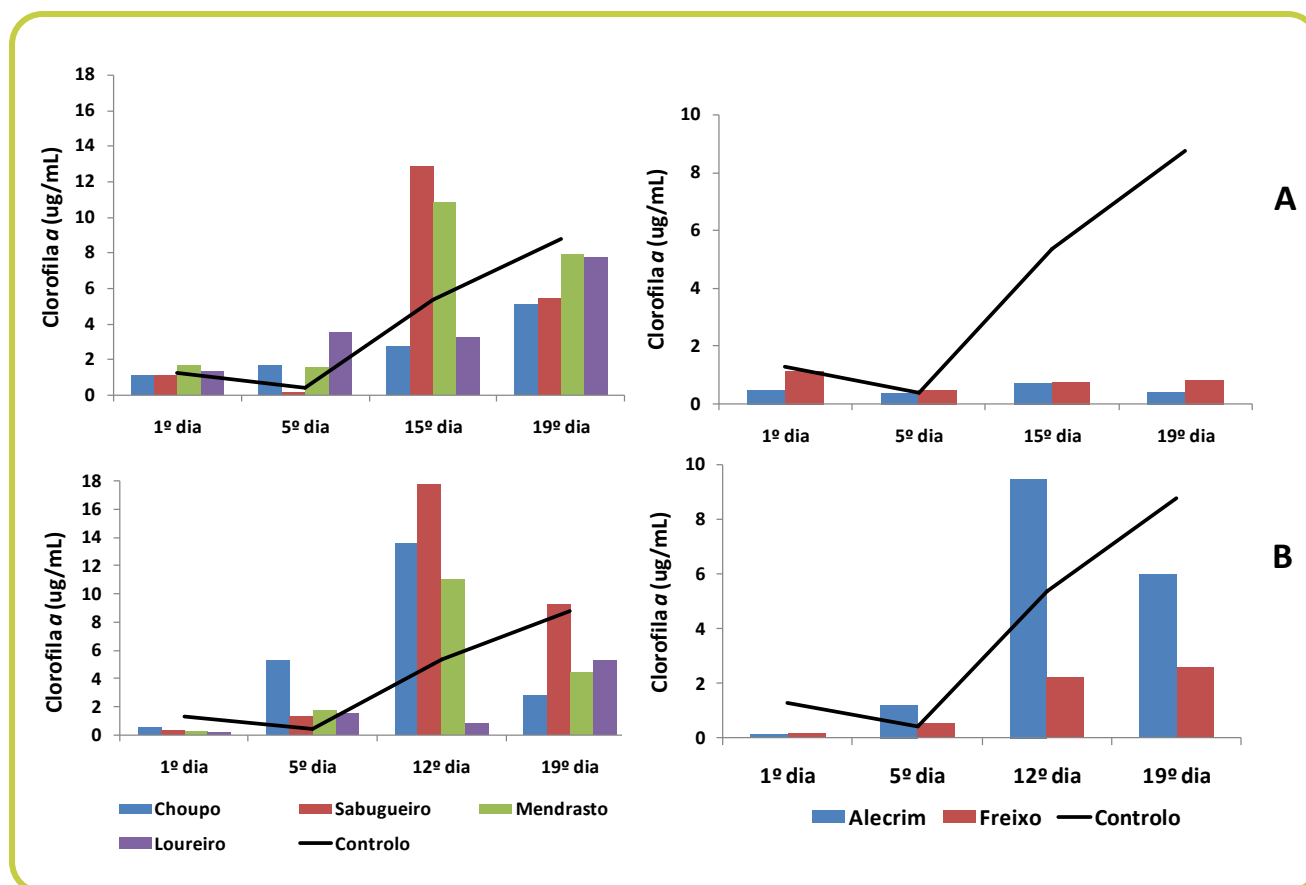


FIGURA 5: Variação da concentração de clorofila *a* em culturas de *A. cylindrica* expostas às decocções nas concentrações de 1:10 (A) e de 1:50 (B) até ao 19º dia de experimentação.

### Avaliação do potencial algicida e algistático dos óleos essenciais

Só foi possível extrair óleos essenciais em quantidades suficientes para os ensaios com alecrim, alfazema, mendrasto e loureiro. Os ensaios mostram que todos os óleos essenciais testados inibem completamente o crescimento de ambas as microalgas (Tabela II a IV), sugerindo um efeito algicida forte. Um aspecto a salientar é a inexistência de halos de inibição em todos os ensaios realizados. Este facto provavelmente dever-se-á à elevada volatilidade destes extractos. Na Figura 6 são apresentadas fotografias de conjuntos experimentais dos ensaios de óleos essenciais referentes a ambas as microalgas.

TABELA II: Avaliação dos controlos dos ensaios em meio sólido para *C. vulgaris* e *A. cylindrica*

	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Anabaena cylindrica</i>
<b>Esterilização</b>	-	-
<b>Crescimento</b>	++	++
<b>Disco</b>	++	++
<b>Disco + DMSO</b>	++	++

(-) Ausência de crescimento; (+) Presença de crescimento; (++) crescimento notório

TABELA III: Avaliação do crescimento de *C. vulgaris* em meio sólido na presença das várias concentrações de óleos essenciais.

	1:1	1:3	1:4	1:10	1:50
<b>Alfazema</b>	-	-	-	-	-
<b>Alecrim</b>	-	-	-	-	-
<b>Mendrasto</b>	-	-	-	-	-
<b>Loureiro</b>	-	-	-	-	-

( - ) Ausência de crescimento.

TABELA IV: Avaliação do crescimento de *A. cylindrica* em meio sólido na presença das várias concentrações de óleos essenciais.

	1:1	1:3	1:4	1:10	1:50
<b>Alfazema</b>	-	-	-	-	-
<b>Alecrim</b>	-	-	-	-	-
<b>Mendrasto</b>	-	-	-	-	-
<b>Loureiro</b>	-	-	-	-	-

( - ) Ausência de crescimento.



## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos parecem indicar que as decocções de alecrim e loureiro nas concentrações de 1:4 têm efeito algistático nas culturas de *C. vulgaris* e potencial para diminuir a proliferação celular em culturas de *A. cylindrica*. A decocção de loureiro na concentração de 1:10 também revelou potencial algistático. Por seu turno, *A. cylindrica* foi também sensível à decocção do freixo nas concentrações de 1:4 e nas concentrações de 1:10. Em nenhuma concentração estudada se verificou efeito algicida. Durante a fase exponencial de crescimento são diversos os factores, quer intrínsecos, quer extrínsecos, que interferem com as taxas de crescimento das culturas. Estes incluem o estado fisiológico do inóculo, a concentração de nutrientes no meio de cultura, pH e temperatura de incubação, entre outros. Nestes ensaios, dado que as condições de incubação e o estado fisiológico do inóculo foram idênticas, as diferenças nas taxas de crescimento em *C. vulgaris* e nas concentrações de clorofila *a* em *A. cylindrica* devem-se à variação da composição do meio de cultura resultante das decocções e diferentes concentrações testadas (Barros, 2010). No futuro será testado o efeito destes extractos em culturas em diferentes estádios e não só na fase exponencial, pois tendo em conta o que foi acima mencionado é de esperar que haja diferenças nas respostas das culturas algais. Nesta fase da investigação ainda não foi feito qualquer estudo que vise determinar a composição das decocções ou dos óleos essenciais que revelaram efeito mais promissor.



Contudo, considerando dados da literatura disponível sobre algumas espécies de plantas espontâneas em Portugal (Proença da Cunha et al., 2007) é possível afirmar, por exemplo, que as folhas e as partes aéreas do alecrim são compostas por taninos, flavenóides, lactonas, ácidos e álcoois triterapénicos, ácidos polifenólicos e derivados do ácido cafeico. O loureiro possui também flavenóides, taninos, lactonas e ainda vestígios de alcalóides isoquinoleicos. Ainda segundo os mesmos autores, o óleo essencial do alecrim é constituído por  $\alpha$ - pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno e limoneno entre outros compostos. Por sua vez, o óleo essencial do loureiro é constituído principalmente por cineol. Alguns destes compostos quando presentes em determinadas concentrações serão certamente responsáveis pelos efeitos algistático e algicida observados. A suposição de que os compostos acima mencionados são responsáveis pelos efeitos algicidas e algistáticos observados é suportada por vários autores (e.g. Harrison e Chan 1980; Hassan et al., 2004; Jančula et al., 2007) que analisaram a composição dos extractos de plantas com efeito inibitório no crescimento de microalgas, e que verificaram que esta acção era consequência de substâncias como compostos fenólicos, alcalóides, taninos, terpenos e flavenóides. De acordo com Mohamed et al. (2010) estes extractos têm efeitos algicidas ou algistáticos, porque alguns constituintes interferem com algumas das funções fisiológicas a nível celular. De facto, Feng-Min e Hong-Ying (2005) verificaram que os extractos de *Phragmites communis* provocam uma redução na actividade de enzimas anti-oxidantes como a superóxido dismutase e a peroxidase (que são defesas anti-oxidantes), sendo a integridade da membrana celular afectada. Interessante foi também verificar que em concentrações baixas, os compostos presentes nas decocções poderão ter um efeito contrário ao pretendido, ou seja, estimulam o crescimento das microalgas em cultura.



## APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

De acordo com a Directiva Quadro da Água, as águas superficiais de todos os Estados Membros deverão atingir um bom estado ecológico até 2015. A supressão dos *blooms* de algas passa pela redução das entradas de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, o que não será possível sem um correcto ordenamento territorial. Mesmo que este estado de qualidade ecológica venha um dia a ser atingido, será sempre necessária uma gestão contínua destes sistemas. Este tipo de investigação é, assim, relevante sob duas perspectivas: (1) Ao conhecer-se as propriedades algicidas e algistáticas das plantas é possível gerir melhor a vegetação associada aos ecossistemas aquáticos (mata ripícola) e assim controlar mais eficientemente, e sem recurso a algicidas e algistáticos convencionais, a intensidade dos *blooms* de algas; (2) Alguns destes extractos poderão ser futuramente utilizados em sistemas aquáticos de pequenas dimensões e confinados, tal como piscinas e lagos ornamentais e constituir uma alternativa de baixo impacto ambiental aos produtos convencionais. São objectivos futuros: alargar este estudo a outras plantas; nomeadamente plantas aquáticas e outras da mata ripícola; avaliar os efeitos dos extractos e das plantas directamente sem qualquer tratamento na fisiologia das microalgas; investigar a toxicidade dos extractos e de partes de plantas em espécies não alvo, como é o caso dos peixes e do zooplâncton; identificar e isolar as substâncias presentes nas plantas e nos extractos que revelem efeitos mais promissores. O recurso à utilização *in situ* de mesocosmos poderá ajudar a extrapolar como será o comportamento destes extractos no ambiente natural.

**agradecimentos** • Às Instituições que cederam as algas: Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica do Porto (*Chlorella vulgaris* (CBS15-2075)); Universidade de Trás - os - Montes e Alto Douro, Vila Real (*Anabaena cylindrica* (UTAD\_A212)). Ao revisor, cujas sugestões ajudaram a melhorar em muito a qualidade do manuscrito. A A. Martins pelas facilidades na utilização da câmara de cultura; M.J. Sousa pelo apoio durante a extração dos óleos essenciais; A. Teixeira pela cedência da foto que constitui a Figura 1.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barros S (2010). Avaliação do potencial algicida e algistático de extractos vegetais em microalgas. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, 57 pp.
- Barros S, Gerales AM, Ramos A, Galhano V, Fernandes C (2010). Avaliação do potencial algicida e algistático de extractos vegetais em microalgas (Chlorophyta e Cyanophyta) AIL. XV Congresso Ibérico de Limnologia. 5-9 Julho, Ponta Delgada, Açores.
- Berger J, Schagerl M (2004). Allelopathic activity of Characeae. *Biologia* (Bratislava) 59: 9 – 15.
- Bourgau F, Gravot A, Milesi S, Gontier E (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science* 161: 839–851.
- Caffrey JM, Monahan C (1999). Filamentous algal control using barley straw. *Hydrobiologia* 415: 315 – 318.
- Cantrell LK, Mamonov RN, Kustova TS, Fischer NH, Schrader KK (2007). Bioassay-guided isolation of anti-algal constituents from *Inula helenium* and *Limonium myrianthum*. *ARKIVOC* 7: 65-75.
- Feng-Min L, Hong-Ying H (2005). Isolation and Characterization of a Novel Antialgal Allelochemical. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 6545–6553.
- Geiger S, Henry E, Hayes P, Haggard K (2005). Barley straw – Algae control literature analysis. <http://barleyworld.org/barleystraw/Barley%20Straw%20%20Algae%20Control%20Lit%20Anal%20Final.pdf> (acedido em 19/11/2010).
- Gross EM (2000). Seasonal and spatial dynamics of allelochemicals in the submersed macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. *Limnologia* 27: 2116 - 2119.
- Gross EM, Hilt S, Lombardo P, Mulderij G (2007). Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton – state of the art and open questions. *Hydrobiologia* 584: 77 - 88.
- Harrison PG, Chan AT (1980). Inhibition of the Growth of Micro-Algae and Bacteria by Extracts of Eelgrass (*Zostera marina*) Leaves. *Marine Biology* 61: 21 - 26.
- Hassan FM, Yaseen AA, Abed RK (2004). Effect of some medicinal plants extracts on the growth of the alga *Microcystis aeruginosa* Kuetz. *Iraqi Journal of Science* 45: 92-98.
- Hilt S (2006). Allelopathic inhibition of epiphytes by submerged macrophytes. *Aquatic Botany* 85: 252 - 256.
- Hilt S, Gross EM (2008). Can allelopathically active submerged macrophytes stabilize clear – water states in shallow lakes? *Basic and Applied Ecology* 9: 422 - 432.
- Inderjit (1996). Plant Phenolics in Allelopathy. *The Botanic Review* 62: 186 - 202.
- Jančula D, Suchomelová J, Gregor J, Smutná M, Maršálek B, Táborská E (2007). Effects of Aqueous Extracts from Five Species of the Family Papaveraceae on Selected Aquatic Organisms. *Environmental Toxicology* 480 – 486.
- Lorenzen C J, Jeffrey S W (1980). Determination of chlorophyll in seawater. Unesco tech. pap. mar. sci., 35. 20p.
- Mohamed ZA, Shehri AM (2010). Differential Responses of Epiphytic and Planktonic Toxic Cyanobacteria to Allelopathic Substances of the Submerged Macrophyte *Stratiotes aloides*. *International Review Hydrobiology* 95: 224–234.
- Mulderij G, Smolders AJP, Donk EV (2006). Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. *Freshwater Biology* 51: 554 – 561.
- Newman JR, Barret PRF (1993). Control of *Microcystis aeruginosa* by decomposing barley straw. *Journal of aquatic plant Management* 31: 203 – 206.
- Proença da Cunha A, Ribeiro JA, Roque OR (2007). Plantas aromáticas em Portugal: caracterização e utilizações. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, pp. 328
- Yang W, Liu J, Li H, Zhang X, Qi Y. (2009). Inhibition of the Growth of *Alexandrium tamarense* by Algicidal Substances in Chinese Fir (*Cunninghamia lanceolata*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 83: 537 – 541.
- Zhang WH, Hu GJ, He W, Zhou LF, Wu XG, Ding HJ (2009). Allelopathic effects of emergent macrophyte, *Acorus calamus* L. on *Microcystis aeruginosa* Kietzing and *Chlorella pyrenoidosa* Chick. *Allelopathy Journal* 24: 157 – 168.